

L'immuno-hématologie des receveurs de sang : quels tests utiles ?

Immunohaematology for transfusion recipients: which useful tests?

Virginie Ferrera
Dominique Legrand
Jacques Chiaroni

EFS Alpes-Méditerranée
149 Bd Baille,
13392 Marseille Cedex 5
<jacques.chiaroni@efs.sante.fr>

Résumé. Le risque immuno-hémolytique des transfusions sanguines est directement lié au caractère immunogène des systèmes de groupes érythrocytaires. Selon les données d'hémovigilance nationale, le risque immunologique est estimé à 1/8900 produits sanguins labiles (PSL) transfusés. Le risque relatif à l'incompatibilité ABO en représente environ 7 % et celui lié aux autres systèmes érythrocytaires y contribue à hauteur de 17 %. L'analyse de ces événements met essentiellement en évidence des défaillances humaines. Les analyses immuno-hématologiques à mettre en œuvre doivent permettre de définir les antigènes et de détecter les anticorps présents dans le PSL et chez le patient. Ces tests permettent de sélectionner les unités ne comportant pas les ou l'antigène(s) correspondant(s) aux anticorps du patient les ou l'anticorps correspondant(s) à l'antigène du patient. Les analyses réalisées en situation habituelle sont le groupage ABO-RH1, le phénotype RH-KEL1 et la recherche d'anticorps anti-érythrocytaires. D'autres tests sont nécessaires en transfusion néo-natale et dans les situations de conflit immunologique. Leur réalisation analytique et leur exploitation représentent des étapes critiques du processus transfusionnel. Leur fiabilisation repose sur des critères techniques définis par la réglementation, sur l'automatisation et sur les transferts informatiques de données. Les phases de prélèvement et d'identification du patient, souvent mises en cause dans les accidents immuno-hémolytiques, doivent faire l'objet de la plus grande rigueur.

Mots clés : immuno-hématologie érythrocytaire, sécurité immuno-hémolytique, risque immuno-hémolytique, transfusion

Abstract. The immuno-haemolytic risk of the blood transfusions is directly related to the immunogenic character of the blood groups systems. According to data's of national haemovigilance network, the immunological risk is estimated at 1/8900 transfused blood products. The risk relating to incompatibility ABO accounts for of them approximately 7 % and that related to the other blood systems contributes to it to a total value of 17 %. The analysis of these events reveals that they are primarily related to human failures. The immuno-haematologic tests define the antigens and detect the antibodies present in the blood product and the patient blood. These tests make it possible to select the units not comprising antigens corresponding to the antibodies of the patient and not comprising antibodies corresponding antigens of the patient. The pretransfusion tests in usual situations are ABO-RH1(D) group, RH-KEL1 phenotype and antibody screen. Other tests are necessary in neo-natal transfusion and haemolytic transfusion reaction. Their analytical realization and their exploitation represent critical stages of the transfusional process. Their reliability rests on technical criteria defined by the regulation, on the automation and the data-processing transfers of results. The phases of blood samples collection and identification of the patient, generally implied in the immuno-haemolytic accidents, must be the subject of the greatest attention.

Key words: erythrocyte immunohaematology, immunohaemolytic safety, immune haemolysis risk, transfusion

Tirés à part :
J. Chiaroni

Le risque immuno-hémolytique des transfusions sanguines est directement lié au caractère immunogène du polymorphisme érythrocytaire qui représente un obstacle à la transfusion incompatible. La sécurité immuno-hémolytique transfusionnelle se définit comme l'ensemble des moyens visant à réduire ou éliminer les risques d'hémolyse immunologique liés aux transfusions de produits sanguins labiles (PSL). Elle repose sur une organisation dont le but est d'éviter la rencontre *in vivo* entre les antigènes et les anticorps correspondants. Cela impose la définition préalable des caractéristiques immunologiques des produits et des patients grâce à la mise en œuvre d'analyses d'immuno-hématologie.

Après avoir rappelé les éléments du risque immuno-hémolytique, nous décrivons les analyses immuno-hématologiques pré-transfusionnelles obligatoires et les modalités d'exploitation de leurs résultats en situation classique. Nous détaillerons ensuite les tests à mettre en œuvre dans les cas particuliers de l'urgence transfusionnelle et de la transfusion néo-natale. Enfin, nous présenterons les analyses nécessaires à l'exploration d'un conflit.

Le risque immuno-hémolytique

Les facteurs du risque immuno-hémolytique

Les conséquences de l'incompatibilité érythrocytaire sont liées à la présence ou à l'apparition secondaire d'anticorps anti-érythrocytaires. Les anticorps impliqués sont de deux types : les anticorps dits « naturels », et les anticorps dits « immuns » [1-3].

Les anticorps « naturels » pré-existent à toute stimulation antigénique reconnue obstétricale ou transfusionnelle. Il peut s'agir des anticorps naturels réguliers du système ABO ou des anticorps naturels dirigés contre un antigène de fréquence élevée (anti-H des sujets H : -1 ou Bombay). Ces hétéro-anticorps peuvent être responsables d'un conflit dès la première transfusion incompatible.

Les anticorps « immuns » sont dirigés contre un des antigènes de l'ensemble des systèmes dits « immunogènes » : Rh, Kell, Duffy, Kidd, MNS(Ss)... Compte tenu de la spécificité humaine de ces antigènes, ces anticorps ne peuvent apparaître qu'après une stimulation interhumaine (obstétricale ou transfusionnelle). En l'absence d'immunisation préalable, la première transfusion incompatible présente un risque potentiel d'allo-immunisation avec mise en jeu du pronostic obstétrico-transfusionnel ultérieur.

Données épidémiologiques

Selon les données d'hémovigilance nationale recensées entre 1994 et 2005, le risque lié à l'incompatibilité ABO est de 1/107 850 PSL distribués et celui lié aux autres systèmes érythrocytaires est de 1/52 000 PSL. L'analyse des événements indésirables dus à une incompatibilité ABO met souvent en évidence des défaillances humaines touchant l'identi-

fication du patient que ce soit au moment du prélèvement des échantillons pré-transfusionnels ou au moment de l'administration du PSL [3, 4].

Les analyses utiles en routine

Les analyses d'immuno-hématologie définissent les caractéristiques immunologiques des PSL et des receveurs et permettent de sélectionner le PSL adéquat qui :

- n'apporte pas le ou les antigènes correspondants aux anticorps présents dans le plasma du patient ;
- n'apporte pas les anticorps correspondants aux antigènes du patient ;
- évite l'apparition d'anticorps chez certains patients.

Les analyses réalisées chez le donneur de PSL appartiennent au domaine de la qualification biologique du don et répondent aux principes des bonnes pratiques transfusionnelles publiées au Journal Officiel [5]. Elles ne seront pas détaillées dans cet article.

Pour les patients, les modalités d'exécution des analyses d'immuno-hématologie sont définies par l'arrêté du 26 avril 2002 [6], annexe du *Guide de bonne exécution des analyses* (GBEA) du 26 novembre 1999 [7]. Outre les règles de réalisation et de validation analytique, cet arrêté définit les caractéristiques d'informatisation et d'automatisation qui autorisent à rendre un résultat de typage érythrocytaire à la suite d'une seule réalisation technique. Il précise les conditions de prise en compte des résultats par les établissements assurant la délivrance des PSL, lesquels doivent répondre à la décision du 6 novembre 2006 définissant les bonnes pratiques transfusionnelles et à la circulaire de décembre 2003 relative à l'acte transfusionnel [8].

La garantie de la fiabilité des résultats des analyses et de leur exploitation passe par la maîtrise de la qualité de chaque étape du processus. Nous aborderons ainsi les règles relatives à la prescription des analyses, à l'exécution des prélèvements, à leur acceptation et leur enregistrement au laboratoire, à la réalisation et à l'exploitation des résultats d'analyses.

Quelles analyses prescrire ?

Dans un contexte de transfusion potentielle ou avérée et en absence de résultats valides, la législation impose, chez tous les patients, la réalisation préalable d'un groupage ABO-RH1, d'un phénotypage RH-KEL1 et d'une recherche d'anticorps anti-érythrocytaires.

Le groupage ABO permet la détection simultanée des antigènes et des anticorps de ce système. Le typage RH1, qui est indissociable du groupage ABO, consiste à rechercher l'antigène RH1 (RhD).

Le phénotypage RH-KEL1, indissociable de l'ABO-RH1, recherche les antigènes RH2 (C), RH3 (E), RH4 (c), RH5 (e) et KEL1 (K) dont la prise en compte pour la transfusion s'inscrit dans le cadre des bonnes pratiques de délivrance.

La recherche des anticorps anti-érythrocytaires (RAI) consiste à dépister puis à identifier les anticorps dirigés contre les

antigènes autres que ceux du système ABO. Le délai habituel de validité de la RAI est de 72 heures à compter du prélèvement. Sur indication formelle du prescripteur ou dans le cadre d'un protocole préétabli et en l'absence d'antécédents transfusionnels ou d'autres épisodes immunisants (grossesse, greffe) dans les six mois précédents, le délai de validité d'une RAI négative peut être porté à 21 jours. De plus, en contexte post-transfusionnel, il est recommandé de réaliser une RAI entre 1 et 3 mois après la transfusion [5]. Ces délais indicatifs ne sont pas toujours cohérents avec les délais d'apparition des anticorps. En effet, les anticorps immuns ne sont détectables avec un maximum de probabilité qu'entre le 10^e et le 15^e jour après la transfusion. L'absence d'anticorps avant la transfusion ne signifie pas, si le patient a des antécédents transfusionnels récents (moins de 3 mois), qu'il n'est pas immunisé. La réactivation d'une immunisation infrasérologique est susceptible de faire réapparaître un anticorps qui peut s'adsorber au fur et à mesure sur les hématies transfusées incompatibles. Ceci explique qu'il faille attendre entre 5 et 10 jours ou plus pour le retrouver dans le sérum [9]. Dans l'attente de cette détection sérologique, un test direct à l'antiglobuline (TDA) reste indiqué. En cas de positivité, une élution directe permet d'identifier l'anticorps adsorbé. De même au cours de série de transfusions, le délai de la RAI doit être discuté et pourra être raccourci en deçà des 72 heures. Chez certains patients (allo-immunisés complexes ou transfusés itératifs), il convient de déterminer leur phénotype érythrocytaire pour les antigènes les plus immunogènes : FY1 (Fy^a), FY2 (Fy^b), JK1 (Jk^a), JK2 (Jk^b), MNS3 (S) et MNS4 (s). Enfin, chez les patients présentant ou ayant présenté un anticorps, le produit ne sera délivré qu'après réalisation d'une épreuve directe de compatibilité au laboratoire (EDCL). Cette analyse consiste à tester l'échantillon de sérum ou de plasma du receveur vis-à-vis des hématies de la tubulure de l'unité à transfuser. Elle est également indiquée chez un nouveau-né présentant une sensibilisation de ses hématies par un anticorps maternel (TDA positif) ou dont la mère est allo-immunisée [6]. Le délai de validité de ce test ne peut dépasser le délai de validité de la RAI. Cette analyse dont l'indication est basée sur le statut immuno-hématologique du patient, doit être exécutée dans les mêmes conditions techniques que la RAI.

Les règles relatives à la prescription des analyses et à l'exécution des prélèvements

L'étape de prélèvement du patient représente une étape critique du processus qui demeure sous la responsabilité du service clinique qui réalise la transfusion.

La difficulté de sécurisation de cette étape, encore trop soumise à des erreurs d'origine humaine [10], justifie qu'un résultat de typage érythrocytaire ne soit valide que s'il est effectué sur deux prélèvements différents, à raison d'une détermination par prélèvement [2]. Ces deux prélèvements doivent être réalisés, indépendamment, à deux moments

distincts, y compris en contexte d'urgence. Leur identification doit faire l'objet d'une attention toute particulière [6, 8, 11] :

- Une étiquette d'identification est apposée sur le ou les tubes par la personne qui a prélevé, immédiatement après le prélèvement du patient et en sa présence. Cette étiquette doit mentionner le nom de naissance, les prénoms, le nom marital ou usuel, le sexe, la date de naissance du patient, ainsi que l'identifiant patient lorsqu'il existe, la date, et si possible l'heure de prélèvement.

- Une dernière vérification des informations portées sur l'étiquette est effectuée en demandant au patient de décliner son identité. A défaut la confrontation de plusieurs types de documents ou sources d'informations d'identité est systématiquement effectuée (dossier, famille, entourage).

Chaque prélèvement doit être accompagné d'une prescription d'examen d'immuno-hématologie qui comporte de manière lisible : l'identification du patient (données identiques à celles apposées sur les tubes), l'identification et la signature du prescripteur, la date de prescription, les examens à réaliser. Une fiche de prélèvement doit accompagner le prélèvement et préciser les nom, prénom, la qualité et la signature de la personne ayant prélevé, la date et l'heure dudit prélèvement, et le nombre d'échantillons transmis. L'ensemble échantillons-prescription-fiche de prélèvement constitue une demande d'examen d'immuno-hématologie. Si la prescription comporte toutes les indications de la fiche de prélèvement, celle-ci n'est pas nécessaire.

Chacune des demandes doit être isolée physiquement afin de pouvoir différencier les deux prélèvements d'un même patient qui serviront à valider un groupe. La transmission de la demande d'examen au laboratoire s'effectue selon la réglementation en vigueur [7, 11].

Les règles d'acceptation et d'enregistrement des prélèvements au laboratoire

Au laboratoire, toute opération qui comporte des opérations manuelles critiques doit faire l'objet de procédures écrites et détaillées. C'est le cas [6] :

- des opérations d'acceptation des éléments de la demande d'examen et de la conduite à tenir en cas de non conformité d'un de ses constituants ;
- de la saisie d'état civil y compris des modalités de sélection d'un dossier patient connu du laboratoire ;
- de la vérification de la saisie et du lien entre le patient et son échantillon afin d'éviter toute erreur d'enregistrement et/ou d'affectation sur un dossier informatique.

Les règles de réalisation des analyses [6]

Quel que soit le test considéré, la performance du système interactif réactif matériel-technique doit être vérifiée. Ainsi, pour chaque analyse, le biologiste doit organiser un contrôle qualité interne (CQI) reposant notamment sur l'analyse d'échantillons de contrôle effectuée dans les mêmes conditions que celles appliquées aux échantillons biologiques. La

validité de ce CQI est un prérequis à la validation analytique des résultats des patients.

Pour le groupage ABO-RH1, une réalisation comporte obligatoirement deux épreuves complémentaires (globulaire et plasmatique), et pour les autres typages une réalisation consiste à utiliser deux réactifs : un réactif spécifique de l'antigène concerné et un réactif témoin dépourvu de toute activité anti-corpale, mais dont la capacité d'agglutination d'hématies sensibilisées reste strictement identique à celle du réactif utilisé.

La recherche d'anticorps anti-érythrocytaire (RAI) consiste à dépister à l'aide d'une gamme d'hématies-tests les anticorps, autres que ceux dirigés contre le système ABO, présents dans le sérum ou plasma du patient. Si ce dépistage est positif, une identification doit être réalisée. La technique obligatoire à mettre en œuvre est un test indirect à l'antiglobuline (TIA ou test de Coombs Indirect) ou une technique équivalente dont la sensibilité doit permettre de détecter un anti-RH1 humain de concentration à 20 ng/mL. Le TIA permet de mettre en évidence l'ensemble des anticorps cliniquement significatifs quelle que soit leur spécificité [12]. Dans certaines circonstances, cette identification d'anticorps peut être réalisée après adsorption du sérum [13], notamment en présence d'auto-anticorps pouvant masquer un allo-anticorps, ou après fixation-élution pour isoler un anticorps dans un mélange complexe.

Les *tableaux 1* et *2* rappellent respectivement les éléments réglementaires relatifs à l'exécution des analyses de typages érythrocytaires et de recherche d'anticorps anti-érythrocytaire.

Les règles d'exploitation des résultats d'analyse [6, 8]

Les résultats obtenus doivent être transférés automatiquement sur le dossier du patient correspondant. Une confrontation automatique des résultats avec l'historique et la détection de discordance est obligatoire. Les transferts de résultat d'automate vers le logiciel du laboratoire doivent être validés ainsi que les algorithmes du système informatique.

Pour éviter les erreurs de transmission et de saisie, les résultats doivent être transférés en totalité et informatiquement, après validation, vers le site de délivrance de PSL. Ces échanges de données doivent être validés par l'émetteur et le récepteur. De plus, afin d'éviter une erreur de patient lors de la sélection des résultats informatiques, le site de délivrance des PSL doit également recevoir un compte rendu papier des résultats immuno-hématologiques [14]. Celui-ci doit être conforme au GBEA 1999 et signé par le biologiste.

En cas d'indisponibilité du système informatisé, une procédure permet d'assurer en mode dégradé la sécurité de la sélection du PSL. Le *tableau 3* récapitule les résultats d'analyses du patient et du PSL qui doivent être confrontés informatiquement. Pour les concentrés globulaires (CGR), le produit possède la qualification « Phénotype RH-KEL1 », si son phénotype RH-KEL1 respecte les antigènes négatifs du phénotype

RH-KEL1 du patient. Le CGR possède la qualification « Phénotype entendu » s'il est compatible pour au moins un antigène autre que ceux du groupe ABO et du phénotype RH-KEL1.

Le CGR possède la qualification « compatible » si une EDCL a été réalisée. Il doit avoir un étiquetage spécifique comportant la mention « compatible le (date) », suivie des éléments d'identification du receveur, de l'identification du laboratoire qui a réalisé le test et de la durée de validité de l'examen [15].

Les analyses utiles en urgence transfusionnelle

Trois niveaux d'urgence transfusionnelle sont définis par les *Bonnes Pratiques* :

– L'urgence vitale immédiate (UVI) où les PSL sont délivrés sans délai. Ils peuvent être délivrés avant la connaissance des résultats des analyses d'immuno-hématologie.

– L'urgence vitale (UV) où le délai d'obtention des PSL est inférieur à 30 minutes. Les concentrés de globules rouges sont délivrés dans la mesure du possible avec deux déterminations de groupage sanguin, éventuellement avant la connaissance des résultats de la RAI, si ceux-ci ne sont pas disponibles.

– L'urgence relative où le délai d'obtention des PSL est le plus souvent de deux à trois heures, ce qui permet la réalisation de l'ensemble des tests prétransfusionnels.

Dans les cas d'UVI et d'UV, l'exploitation d'un groupe connu ne peut se faire qu'en l'absence totale de doute sur l'identité du patient. En l'absence de résultats de groupage ABO valide, la délivrance de PSL O « non réservé à la transfusion isogroupe » s'impose (ou AB pour le plasma). Si le phénotype RH-KEL1 n'est pas valide, des CGR RH-1 sont délivrés. Néanmoins, en raison de la fréquence des allo-immunisations et de l'immunogénicité des antigènes du système RH, certains proposent que les résultats des antigènes RH-KEL1 puissent être exploités dès la 1^{re} détermination [16]. Afin de répondre au mieux à l'urgence transfusionnelle en contexte obstétrical, il est nécessaire de disposer de l'ensemble des résultats d'analyses d'immuno-hématologie dès l'entrée de la femme en salle de travail [17]. Ceci permet d'éviter les retards de délivrance liés à l'indisponibilité des PSL et de prévenir au mieux l'avenir obstétrico-transfusionnel des femmes concernées.

Les analyses utiles en transfusion néo-natale

Du fait des caractéristiques physiologiques et pathologiques de la période périnatale, la prise en charge transfusionnelle des nouveaux-nés présente des particularités. Afin d'éviter les prélèvements répétés qui sont un facteur important d'anémie, des protocoles sont établis entre le site de délivrance et le service prescripteur pour permettre de déroger aux règles

Tableau 1
Eléments réglementaires relatifs à l'exécution des analyses de typages érythrocytaires

	Réactifs	Caractéristiques	Réactifs témoins	CQI	Différence donneur - patient
Groupage ABO-RH1	Réalisation ABO : comporte obligatoirement deux épreuves : - épreuve globulaire : anti- A, anti-B, anti-AB - épreuve plasmatique : hématis-tests A1 et B	- Le réactif anti-B ne doit pas donner de réaction croisée vis-à-vis de l'antigène B acquis. - L'un des 2 réactifs, anti-A ou anti-AB, doit pouvoir reconnaître les hématies Ax. - Au moins une des 2 hématis-tests doit être de phénotype RH : -1	Réalisation ABO : En cas d'incohérence entre épreuve globulaire et plasmatique : - hématie A2 - témoin auto - témoin allo, - réactif témoin. RH1 : systématiquement pour chaque réalisation : réactif témoin	Groupage ABO-RH1 Au minimum, 3 échantillons : - un de groupe A - un de groupe O - un de groupe B dont : - un de groupe RH : -1 - un de groupe RH : 1	Patient : groupage valide si 2 déterminations Transfusion sur groupage valide (2 déterminations)* Donneur : groupage exploité pour étiquetage du don si : - 2 réalisations de groupage au 1 ^{er} don - 1 réalisation à chaque don suivant *sauf urgence vitale
Phénotypage RH-KEL1	Etude des antigènes RH2 (C), RH3 (E), RH4 (c), RH5 (e) et KEL1 (K) : - anti-RH2 - anti-RH3 - anti-RH4 - anti-RH5 - anti-KEL1	/	Systématiquement pour chaque réalisation : - réactif(s) témoin(s) adéquat(s) (dépourvu de toute activité anti-corpale, mais dont la capacité d'agglutination d'hématies sensibilisées reste strictement identique à celle du réactif utilisé)	Au minimum 2 échantillons par réactif : - anti-RH2 : un RH : -2,4 et un RH : 2,4 - anti-RH3 : un RH : -3,5 et un RH : 3,5 - anti-RH4 : un RH : 2,-4 et un RH : 2,4 - anti-RH5 : un RH : 3,-5 et un RH : 3,5 - anti-KEL1 : un KEL : -1 et un KEL : 1	Patient : groupage valide si 2 déterminations Transfusion sur groupage valide (2 déterminations)* Donneur : groupage exploité pour étiquetage du don si : - 2 réalisations de groupage au 1 ^{er} don - 1 réalisation au 2 ^e don - même si 0 réalisation aux dons suivants *sauf urgence vitale
Phénotypage étendu. Etude des antigènes autres que RH-KEL1	Recherche de chaque antigène par un anticorps spécifique	/	Voir caractéristiques des témoins du Phénotypage RH-KEL1	Au minimum 2 échantillons par réactif : un antigène négatif, un antigène positif d'expression « héférozygote »	Patient : groupage valide si 2 déterminations Donneur : groupage exploité pour étiquetage du don si : - 2 réalisations de groupage au 1 ^{er} don - 1 réalisation au 2 ^e don - même si 0 réalisation aux dons suivants

Pour les patients : si les opérations de typage, incluant les modalités de vérification et d'enregistrement des échantillons et des prescriptions, sont strictement réalisées dans les conditions d'automatisation et d'informatisation décrites à l'annexe IV du GBEA2002, une détermination repose sur une seule réalisation exécutée à l'aide d'un lot de réactifs, d'un lot d'hématis-tests et par un technicien. Dans tous les autres cas, une détermination repose sur deux réalisations exécutées par deux techniciens différents. La saisie manuelle des résultats nécessite aussi une double saisie effectuée par deux personnes différentes.

Tableau 2
Eléments réglementaires relatifs à l'exécution des analyses de recherche d'anticorps anti-érythrocytaires

Recherche d'anticorps anti-érythrocytaires autres que ceux dirigés contre le système ABO	Dépistage	<ul style="list-style-type: none"> - Au moins 3 hématies-tests de groupe O. - Antigènes obligatoirement présents : RH1, RH2, RH3, RH4, RH5, KEL1, KEL2, KEL4, FY1, FY2, JK1, JK2, MNS1, MNS2, MNS3, MNS4, LE1, LE2, P1, LU2. - Phénotypes obligatoirement présents : RH : 1, 2, -3, -4, 5 RH : 1, -2, 3, 4, -5 RH : -1, -2, -3, 4, 5. - Une expression phénotypique « homozygote » doit être respectée pour les antigènes FY1, JK1, JK2, MNS3 et si possible FY2 et MNS4. 	Echantillons de contrôle comportant des anticorps (natifs ou réactifs) de spécificité et titre connus avec au minimum un titre ≤ 4 dans la technique d'utilisation et sur une hématie comportant l'antigène correspondant d'expression « hétérozygote ».	<p>Chez les patients : RAI</p> <ul style="list-style-type: none"> - Les hématies ne peuvent pas être poolées. - Délai de validité : voir texte. Chez les donneurs : RAE - Les hématies peuvent être poolées. - Effectuée à chaque don.
	Identification : si dépistage positif	<ul style="list-style-type: none"> - Au moins 10 hématies-tests supplémentaires de groupe O. - Antigènes obligatoirement présents : RH1, RH2, RH3, RH4, RH5, RH6, RH8, KEL1, KEL2, KEL3, KEL4, FY1, FY2, JK1, JK2, MNS1, MNS2, MNS3, MNS4, LE1, LE2, P1, LU1, LU2. - Phénotypes présents sur au moins 2 hématies : KEL1 ; FY : 1,-2 ; FY : -1,2 ; JK : 1,-2 ; JK : -1,2 ; MNS : 3,-4 ; MNS : -3,4 ; P : -1 	Echantillons de contrôle comportant des anticorps (natifs ou réactifs) de spécificité et titre connus avec au minimum un titre ≤ 4 dans la technique d'utilisation et sur une hématie comportant l'antigène correspondant d'expression « hétérozygote ».	Identique chez donneurs et receveurs

La technique obligatoire à mettre en œuvre est un test indirect à l'antiglobuline (test de Coombs Indirect) ou une technique équivalente dont la sensibilité doit permettre de détecter un anti-RH1 humain de concentration à 20 ng/mL. Cette technique peut être complétée par un test aux enzymes protéolytiques qui doit être systématiquement mis en œuvre dans l'exploration des conflits.

Un témoin autologue (hématie du patient - sérum ou plasma du patient) doit être réalisé. Ses résultats sont interprétés en fonction du contexte transfusionnel.

Sa positivité impose la réalisation d'un test direct à l'antiglobuline (TDA).

relatives aux examens prétransfusionnels [18]. Jusqu'à l'âge de 3 mois, une détermination de phénotypage est suffisante sous réserve d'une transfusion en CGR de groupe O « non réservé à la transfusion isogroupe » et de phénotype compatible avec les anticorps de la mère et les antigènes de l'enfant. Le TDA est obligatoire avant la première transfusion afin de rechercher les anticorps maternels fixés sur les hématies de l'enfant. Si ce TDA n'est pas réalisable, il faut disposer des résultats du phénotypage et de la RAI de la mère. Il est à noter que chez le nouveau-né possédant un allo-anticorps maternel les CGR sont compatibilisés vis-à-vis du sérum ou plasma maternel. Lorsque celui-ci est indisponible la compatibilité est réalisée avec le prélèvement de l'enfant [18]. Enfin, en raison de l'origine maternelle des anticorps et de son immunoimmaturité, certains proposent un délai de validité de RAI de 15 jours [19].

Les analyses utiles en contexte de conflit immunologique transfusionnel

Si la rencontre antigène et anticorps se produit, les hématies sont condamnées à la destruction par épuraison du complexe par le système réticulo-histiocytaire. L'activation secondaire du complément peut également avoir lieu.

Les manifestations cliniques du conflit sont variables. On peut observer une inefficacité transfusionnelle, un simple frisson-hyperthermie, un ictère isolé voire un choc immuno-hémolytique sévère avec CIVD en raison d'une hémolyse intravasculaire liée à l'activation du complément jusqu'à C9.

Les analyses mises en œuvre doivent apporter la preuve de l'hémolyse et de la présence d'un conflit immunologique par

Tableau 3
Récapitulatif des contrôles de cohérences réalisés entre les résultats d'analyses du patient et du PSL

Résultat receveur	Résultat PSL (donneur) [17]	
	Eviter le conflit	Prévenir l'allo-immunisation
Groupage ABO	Respect systématique de la compatibilité ABO du PSL (et respect d'éventuels anticorps du système ABO des donneurs classant le PSL en « réservé à la transfusion isogroupe »)	Sans objet
Phénotypage RH1 du receveur (analyse indissociable de l'ABO)	Sans objet	Respect systématique de la compatibilité du phénotype RH1
Phénotypage RH-KEL1	Qualification RH-KEL1 formellement indiquée chez : - les patients ayant ou ayant eu un (des) allo-anticorps anti-érythrocytaire à l'exclusion de ceux jugés sans incidence transfusionnelle ; - les nouveaux-nés possédant un allo-anticorps maternel, quel que soit le sexe.	Qualification RH-KEL1 obligatoire chez : - les femmes en âge de procréer. Qualification RH-KEL1 recommandée chez : - les patients ayant une espérance de vie raisonnable (classiquement l'âge retenu est 70 ans), quel que soit le sexe ; - les polytransfusés itératifs.
Phénotype étendu	Qualification Phénotype Etendu peut être obligatoire en fonction des allo-anticorps détectés chez un patient allo-immunisé. Qualification Compatibilisé est indiquée : - si le patient présente ou a présenté un allo-anticorps anti-érythrocytaire ; - s'il s'agit d'un nouveau-né présentant une sensibilisation de ses hématies par un anticorps (test de Coombs direct positif) ou dont la mère est allo-immunisée.	Qualification Phénotype Etendu peut être proposée chez des patients présentant un phénotype particulier, notamment dans la population drépanocytaire.

incompatibilité transfusionnelle. Elles comportent systématiquement [20, 21] :

- Un groupage ABO-RH1 du patient sur des prélèvements pré et post-transfusionnels.
- Un groupage ABO-RH1 des hématies transfusées.
- Un TDA pratiqué sur un prélèvement post-transfusionnel du patient. Un test sur le prélèvement prétransfusionnel peut être pratiqué pour servir de témoin. Ce test permet la mise en évidence de la sensibilisation *in vivo* des hématies humaines par des anticorps anti-IgG et/ou des fractions du complément. Il doit être réalisé de préférence sur un échantillon anticoagulé. L'interprétation des résultats ne peut être envisagée de manière isolée. Elle doit tenir compte des résultats des autres tests. De plus, la négativité du TDA n'écarte pas un conflit immunologique et sa positivité n'implique pas qu'un anticorps présent sur les hématies soit responsable de l'hémolyse et des signes cliniques associés.
- Une élution directe effectuée sur le prélèvement post-transfusionnel et éventuellement sur le prélèvement prétransfusionnel du receveur. Cette technique consiste à détacher les anticorps éventuellement fixés sur les hématies transfusées puis à tester l'éluat obtenu vis-à-vis d'hématies-tests selon le même principe qu'une recherche d'anticorps anti-érythrocytaire. Dans le cadre de l'exploration d'un conflit, ce test est obligatoire même si le TDA est négatif [22]. L'éluat devra être testé également vis-à-vis d'hématies A et B pour rechercher une incompatibilité ABO. L'intérêt de cette analyse est de prouver la présence d'un anticorps de spécificité

définie à la surface des hématies. Dans certains cas, l'élution directe met en évidence des anticorps non détectés par la RAI effectuée sur sérum ou plasma en raison de leur adsorption sur l'hématie incompatible. Comme pour le TDA, sa négativité n'écarte pas la réalité du conflit immunologique. De même sa positivité n'implique pas que l'anticorps soit responsable de l'hémolyse et des signes cliniques associés.

- Une RAI sur les prélèvements pré et post-transfusionnels du receveur. Outre la technique en TIA, une identification sur hématies traitées par une enzyme protéolytique devra être réalisée (impératif réglementaire). Cet élargissement des techniques a pour objectif de détecter la moindre trace résiduelle de l'anticorps responsable qui a pu s'adsorber sur les hématies incompatibles.

- Une épreuve de compatibilité au laboratoire entre les prélèvements pré et post-transfusionnels du receveur et les hématies transfusées.

Conclusion

Les analyses d'immuno-hématologie appartiennent au processus transfusionnel et participent à la sécurité immuno-hémolytique. Les données de l'hémovigilance et de la bibliographie démontrent la persistance d'accidents par incompatibilité ABO et par anticorps de spécificités courantes. Si depuis 2002, la sécurisation des actes de laboratoire a progressé grâce, notamment à l'automatisation et à l'infor-

matisation, il reste néanmoins des améliorations à réaliser au niveau des étapes pré-analytiques de la prescription médicale, de l'identification du patient et de son prélèvement. L'étape post-analytique doit aussi être confortée grâce aux échanges informatiques permettant de fiabiliser les données immuno-hématologiques introduites dans le système de délivrance. La disponibilité simultanée des données relatives aux caractéristiques des PSL et au statut immuno-hématologique du patient permet une confrontation automatique au moment de la délivrance du produit sanguin labile. Cependant, afin d'assurer l'intégrité des données, ces échanges informatiques de résultats doivent faire l'objet d'une validation, tout comme les transferts de résultat d'automate vers le logiciel du laboratoire dont les algorithmes informatiques doivent aussi être validés. ■

RÉFÉRENCES

1. Davenport RD. Hemolytic transfusion reactions. In : Popovsky M, ed. *Transfusion reactions*. Bethesda : AABB Press, 1996 : 1-44.
2. Chiaroni J, Legrand D. Sécurité immunitaire des transfusions sanguines. *Rev Prat* 2001 ; 51 : 1311-8.
3. Chiaroni J. Risque immuno-hémolytique des transfusions sanguines et analyses d'immuno-hématologie érythrocytaire. *RFL* 2003 ; 355 : 45-51.
4. Rouger P, Le Pennec PY, Noizat-Pirenne F. Le risque immunologique en transfusion et sa prévention. In : Lefrère JJ, Rouger P, eds. *Transfusion sanguine : une approche sécuritaire*. Médecine Sciences Sélection, John Libbey Eurotext, 2000 : 244-61.
5. Décision du 6 novembre 2006 définissant les principes des bonnes pratiques prévus à l'article L1223-3 du Code de la Santé Publique. Journal Officiel de la République Française du 10 novembre 2006.
6. Arrêté du 26 avril 2002 modifiant l'arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale – cas particuliers des bonnes pratiques en immuno-hématologie érythrocytaire. Journal Officiel de la République Française du 4 mai 2002 : 8 375-83.
7. Arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale. Journal Officiel de la République Française du 11 décembre 1999 : 18 441-52.
8. Circulaire DGS/DHOS/AFSSAPS n°03/582 du 15 décembre 2003 relative à la réalisation de l'acte transfusionnel.
9. Goudemand M, Salmon C. *Immuno-hématologie et immuno-génétique*. Paris : Flammarion Médecine-Sciences, 1980 ; p. 337.
10. Chiaroni J, Legrand D, Dettori I, Ferrera V. Analysis of ABO discrepancies occurring in 35 french hospitals. *Transfusion* 2004 ; 44 : 860-4.
11. Décret n 2002-660 du 30 avril 2002 relatif aux conditions de transmission des prélèvements biologiques aux laboratoires d'analyses de biologie médicale. Journal Officiel de la République française du 2 mai 2002 : 7 942.
12. Manessier L. Nouvel arrêté de bonnes pratiques d'immuno-hématologie : analyse critique. *Transf Clin Biol* 2003 ; 10 : 201-5.
13. Chiaroni J, Touinssi M, Mazet M, Ferrera V. LISS adsorption of autoantibodies to detect allo-antibodies underlying warm autoantibodies. *Transfusion* 2003 ; 43 : 651-5.
14. Note EFS-04-41 du 03.05.2004 relative aux conditions d'utilisation du logiciel ERA pour la transmission des résultats d'analyses immuno-hématologiques.
15. Arrêté du 29 avril 2003 fixant la liste et les caractéristiques des PSL. Journal Officiel de la République française du 28 mai 2003 : 9 118.
16. Legrand D, Courbil R, Chiaroni J. Risque immunologique et transfusion en urgence vitale. *Gazette de la transfusion* 1995 : 110.
17. Conclusions sur la table ronde organisée par l'EFS sur le traitement des urgences transfusionnelles obstétricales le 26 septembre 2000 – Note DMS EFS du 7 juin 2001.
18. Transfusion de globules rouges homologues : produits, indications, alternatives. Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé, août 2002.
19. Arnaud F, Simeoni U. La transfusion de produits sanguins labiles en période néo-natale. *Transf Clin Biol* 2005 ; 12 : 336-41.
20. Le Pennec PY, Noizat-Pirenne F, Rouger P. Diagnostic clinique et biologique des accidents immunologiques de la transfusion. In : Lefrère JJ, Rouger P, eds. *Transfusion sanguine : une approche sécuritaire*. Médecine sciences sélection. John Libbey Eurotext, 2000 : 262-77.
21. Le Pennec PY, Tissier AM, Noizat-Pirenne F, Rouger P. Les accidents immuno-hémolytiques transfusionnels – Bases physiologiques et diagnostic. *Transf Clin Biol* 1996 ; 3 : 149-55.
22. Rouger P, Salmon C. *La pratique des allo- et auto-anticorps anti-érythrocytes*. Paris : Masson, 1981 ; p. 12-32.